

氏名 石 尾 将 吾

授与した学位 博 士

専攻分野の名称 薬 学

学位授与番号 博甲第2377号

学位授与の日付 平成14年 3月25日

学位授与の要件 自然科学研究科生体調節科学専攻

(学位規則第4条第1項該当)

学位論文の題目 ラット松果体における興奮性アミノ酸によるメラトニン合成調節機構の解析

論文審査委員 教授 森山 芳則 教授 成松 鎮雄 教授 土屋 友房

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

メラトニンは松果体細胞が合成・分泌しているホルモンであり、睡眠や成熟、生殖機能の調節等、数多くの生理現象に関与している。従来、メラトニンの合成は生体時計の本体である視交叉上核によって制御されており、松果体器官に投射している交感神経から放出されるノルエピネフリン (NE) によって正の調節のみを受けていると考えられてきた。私の所属する研究室ではこれまでに、松果体細胞に全く新しい調節機構が存在することを明らかにしてきた。すなわち (1) 松果体細胞にはマイクロベシクルと呼ばれるシナプス小胞様の酸性オルガネラに、神経伝達物質である L- グルタミン酸 (L-Glu) を蓄積している。(2) マイクロベシクル内に蓄積された L-Glu は、L 型カルシウムチャンネルを介した膜の脱分極刺激により、細胞外に開口放出される。(3) 放出された L-Glu は、クラス II の代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR3) を介して細胞内 cAMP 濃度を減少させ、メラトニン合成の律速酵素であるセロトニン N- アセチル基転移酵素 (NAT) 活性を低下させ、メラトニンの合成・分泌を阻害する。これらの結果から松果体にはメラトニン合成の抑制機構が内在することが考えられる。本研究ではこの抑制機構のより詳細な解析を行なった。

NAT 活性の調節は主に転写レベルで行われており、交感神経からの NE 刺激により遺伝子発現が 100 倍以上に増加する。L-Glu は NAT の転写量を減少させ、活性を阻害することを明らかにした。L-Glu は NAT だけでなくメラトニン合成の最終段階を触媒する酵素である水酸化インドール-O-メチル基転移酵素 (HIOMT) も阻害していた。以上の結果から、L-Glu は NAT と HIOMT を阻害することにより、メラトニン合成を強力に阻害していると考えられる。

近年になり、哺乳類に D 体のアミノ酸が存在することが明らかになり、何らかの生理作用を果たしていると考えられる。しかしながらその実体はほとんど明らかになっていなかった。最近になり、松果体細胞には知られる限り最も高濃度の D-アスパラギン酸 (D-Asp) が含まれている。私は D-Asp の生理作用の解明を目指して実験を行い、以下のことを明らかにした。(1) 松果体細胞は開口放出とは異なる機構で D-Asp を放出する。(2) D-Asp は NAT と HIOMT を阻害することにより L-Glu よりも強力にメラトニンの合成を阻害する。(3) D-Asp は松果体細胞内で合成されている可能性がある。以上の結果から松果体は D-Asp を L-Glu と同様にメラトニン合成の抑制因子として用いている可能性が考えられる。

本研究において、L-Glu と D-Asp によるメラトニンの合成阻害機構を明らかにする事ができた。

論文審査結果の要旨

我々の体には周期が約24時間のリズムが流れている。これを概日リズムと呼んでいる。これは視交叉上核に内在する生体時計からの時間情報を松果体がメラトニンという時間情報ホルモンに転換し、体のすみずみまで送り込むことにより達成される。松果体におけるメラトニンの合成・分泌は極めて厳密に制御されている。すなわち、生体時計からの時間情報がノルアドレナリン刺激として松果体に到達し、メラトニン合成の律速酵素であるN-acetyltransferase (NAT)の転写が上昇し、メラトニン合成が上昇する。これに対し、当研究室において、メラトニン合成を抑制する機構が松果体に内在することが見出されていた。すなわち、松果体はグルタミン酸作動性の内分泌細胞であり、グルタミン酸を開口放出し、受容体を介してメラトニン合成を抑制する。本研究は、グルタミン酸による受容体を介したメラトニン合成抑制機構を解明した。すなわち、グルタミン酸により受容体が刺激されると、細胞内cAMPレベルが低下し、それに伴い、NAT mRNA量が低下する。さらに、グルタミン酸によりメラトニン合成に関与するhydroxyindole-O-methyltransferaseの活性が酵素レベルで低下する。このそれぞれ異なった2つの阻害によりメラトニン合成抑制が起こることを明らかにした。さらに、松果体に含まれているD体のアスパラギン酸もグルタミン酸と同様の機構でメラトニン合成を抑制することを明らかにした。

一連の成果は、負のメラトニン合成制御機構を全貌を初めて明らかにしただけではなく、これまで不明であったD体アミノ酸の哺乳類における生理的意義を初めて示した点で重要である。よって博士号にふさわしいと判定する。